FLEX
Polyclonal Rabbit
Anti-Human
Thyroglobulin
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Code IS509

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Thyroglobulin, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus), is intended for use in immunohistochemistry together with Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments. This antibody is useful for the identification of thyroglobulin in thyroid tissue and is a useful tool for the identification of well differentiated thyroid carcinomas (1, 2). The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Summary and explanation

Thyroglobulin (Tg) is a glycoprotein with a predominant form as a 660 kDa homodimer. Tg, the precursor of thyroid hormones, is synthesized by thyrocytes and transported to the apical surface where it is secreted into the lumen of thyroid follicles and stored as the major component of colloid (> 95%). A minor proportion of Tg is found as 330 kDa monomers or as tetramers. Reduction or degradation of 660 kDa or 330 kDa Tg molecules can lead to the formation of smaller polypeptides, some of which are present in trace amounts in the colloid. At the cell-colloid interface, post-transitional modifications of Tg occur, which are characterized by coupling of tyrosyl residues with iodide, leading to the formation of thyroid hormone residues within the Tg molecule. Hormone release generally requires uptake of Tg from the colloid by thyrocytes and proteolytic cleavage along the lysosomal pathway (3).

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

Ready-to-use polyclonal rabbit antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L NaN_3.

Immunogen

Human thyroglobulin isolated from human thyroid glands.

Specificity

The antibody labels human Tg, traces of contaminating antibodies have been removed by solid-phase absorption with human plasma proteins.

In crossed immunoelectrophoresis using 12.5 µL concentrated antibody per cm^2 gel area against 2 µL of human thyroid gland extract, only one precipitate corresponding to Tg appears. With 2 µL of human plasma, no precipitate appears. Staining: Coomassie Brilliant Blue.

In human thyroid cell cultures, the antibody labels intracellular Tg (4).

Precautions

1. For professional users.

2. This product contains sodium azide (NaN_3), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.

3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.

4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.

5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2-8 ℃. Do not use after expiration date sta mped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation including materials required but not supplied

The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.

Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required using Dako PT Link (Code PT100/PT101). For details, please refer to the PT Link User Guide. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004).

Paraffin-embedded sections: Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using the 3-in-1 specimen preparation procedure for Dako PT Link. Follow the pre-treatment procedure outlined in the package insert for EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004). Note: After staining the sections must be dehydrated, cleared and mounted using permanent mounting medium.

Deparaffinized sections: Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link and following the same procedure as described for paraffin-embedded sections. After staining the slides should be mounted using aqueous or permanent mounting medium.

The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020) is recommended.

Staining procedure including materials required but not supplied

The recommended visualization system is EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8010). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the software of Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments, using the following protocols:

Template protocol: FLEXRTU2 (200 µL dispense volume) or FLEXRTU3 (300 µL dispense volume)
Autoprogram: Thyrog (without counterstaining) or ThyrogH (with counterstaining)

The Auxiliary step should be set to "rinse buffer" in staining runs with ≤10 slides. For staining runs with >10 slides the Auxiliary step should be set to "none". This ascertains comparable wash times.

All incubation steps should be performed at room temperature. For details, please refer to the Operator's Manual for the dedicated instrument. If the protocols are not available on the used Dako Autostainer platform, please contact Dako Technical Services.

Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory. If the evaluating pathologist should desire a different staining intensity, a Dako Application Specialist/Technical Service Specialist can be contacted

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

for information on re-programming of the protocol. Verify that the performance of the adjusted protocol is still valid by evaluating that the staining pattern is identical to the staining pattern described in "Performance characteristics".

Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (K8018). Non-aqueous, permanent mounting medium is recommended.

Positive and negative controls should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include thyroid and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in "Performance characteristics" in all positive specimens. The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Rabbit (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code IS600).

Staining interpretation

The cellular staining pattern is cytoplasmic and lumen of thyroid follicles and the apical surface of thyrocytes.

Performance characteristics

Normal tissues: The antibody labels Tg in thyroid follicles and at the apical surface of thyrocytes. Thyroglobulin is found in thyroid follicular cells and to a lesser extent, in interstitial tissue and thyroid stroma due to normal leakage.

Abnormal tissues: In hyperplastic glands, thyroglobulin has been detected in follicles and the glandular cells of smaller follicles. This antibody stains papillary, follicular and multi-hormone producing medullary carcinomas (5-7). Thyroglobulin has also been detected in follicular clear cell carcinomas whereas other clear cell neoplasms are not labeled (5, 8). Some anaplastic spindle and giant cell carcinoma cells are also reactive. Sarcomas or metastatic carcinomas are negative (5).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation diagnostique *in vitro.*

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Thyroglobulin, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) est destiné à une utilisation en immunohistochimie avec les instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus. Cet anticorps est utile pour l'identification de la thyroglobuline dans le tissu thyroïdien et pour l'identification des carcinomes thyroïdiens bien différenciés (1, 2). L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Résumé et explication

La thyroglobuline (Tg) est une glycoprotéine se présentant essentiellement sous forme d'homodimère de 660 kDa. La Tg est le précurseur des hormones thyroïdiennes. Elle est synthétisée par les thyrocytes, puis est transportée vers la surface apicale où elle est sécrétée dans la lumière des follicules thyroïdiens et emmagasinée comme le composant principal de la colloïde (> 95 %). Une faible proportion de Tg existe sous forme de monomères de 330 kDa ou de tétramères. La réduction ou la dégradation des molécules de Tg de 660 kDa ou de 330 kDa peut conduire à la formation de polypeptides plus petits, dont certains sont présents sous forme de traces dans la colloïde. Des modifications post-translationnelles de la Tg ont lieu au niveau de l'interface cellules-colloïde. Ces modifications sont caractérisées par le couplage des résidus tyrosyl avec l'iodure conduisant à la formation des résidus d'hormones thyroïdiennes au sein de la molécule de Tg. La libération des hormones requiert généralement la capture de la Tg présente dans la colloïde par les thyrocytes et un clivage protéolytique selon la voie lysosomale (3).

Se référer aux *Instructions générales de coloration immunohistochimique* de Dako ou aux instructions du système de détection relatives aux procédures IHC pour plus d'informations concernant les points suivants : 1) Principe de procédure, 2) Matériels requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactifs fournis

Anticorps polyclonal de lapin prêt à l'emploi fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.

Immunogène

Thyroglobuline humaine isolée à partir de glandes thyroïdiennes humaines.

Spécificité

L'anticorps marque la Tg humaine ; des traces d'anticorps contaminants ont été éliminées par absorption en phase solide en utilisant des protéines de plasma humain.

Lors d'une immunoélectrophorèse croisée, un seul précipité correspondant à la Tg apparaît lorsque 12,5 µL d'anticorps par cm^2 de gel sont utilisés contre 2 µL d'extrait de glande thyroïdienne humaine. Avec 2 µL de plasma humain, aucun précipité n'apparaît. Coloration : Bleu de Coomassie.

Dans les cultures de cellules thyroïdiennes humaines, l'anticorps marque la Tg intracellulaire (4).

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.

2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN_3), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.

3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.

4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons y compris le matériel requis mais non fourni

L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons de tissu doit être d'environ 4 µm.

Un prétraitement avec démasquage d'épitope induit par la chaleur (HIER) est nécessaire avec le Dako PT Link (Réf. PT100/PT101). Pour plus de détails, se référer au Guide d'utilisation du PT Link. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus à l'aide de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004).

Coupes incluses en paraffine : le prétraitement des coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine est recommandé à l'aide de la procédure de préparation d'échantillon 3-en-un pour le Dako PT Link. Suivre la procédure de prétraitement indiquée dans la notice de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004). Remarque : après coloration, les coupes doivent être déshydratées, lavées et montées à l'aide d'un milieu de montage permanent.

Coupes déparaffinées : le prétraitement des coupes tissulaires déparaffinées, fixées au formol et incluses en paraffine, est recommandé à l'aide du Dako PT Link, en suivant la même procédure que pour les coupes incluses en paraffine. Après coloration, un montage aqueux ou permanent des lames est recommandé.

Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des lames FLEX IHC Microscope Slides (Réf. K8020).

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Procédure de coloration y compris le matériel requis mais non fourni

Le système de visualisation recommandé est le FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8010). Les étapes de coloration et d'incubation sont préprogrammées dans le logiciel des instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus, à l'aide des protocoles suivants :

Protocole modèle : FLEXRTU2 (volume de distribution de 200 µL) ou FLEXRTU3 (volume de distribution de 300 µL) Autoprogram : Thyrog (sans contre-coloration) ou ThyrogH (avec contre-coloration)

L'étape Auxiliary doit être réglée sur « rinse buffer » lors des cycles de coloration avec ≤10 lames. Pour les cycles de coloration de >10 lames, l'étape Auxiliary doit être réglée sur « none ». Cela garantit des temps de lavage comparables.

Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante. Pour plus de détails, se référer au Manuel de l'opérateur spécifique à l'instrument. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur la plateforme Dako Autostainer utilisée, contacter le service technique de Dako.

Les conditions optimales peuvent varier en fonction du prélèvement et des méthodes de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Si le pathologiste qui réalise l'évaluation désire une intensité de coloration différente, un spécialiste d'application/spécialiste du service technique de Dako peut être contacté pour obtenir des informations sur la re-programmation du protocole. Vérifier que l'exécution du protocole modifié est toujours valide en vérifiant que le schéma de coloration est identique au schéma de coloration décrit dans les « Caractéristiques de performance ».

Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'aide d'hématoxyline EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8018). L'utilisation d'un milieu de montage permanent non aqueux est recommandée.

Des contrôles positifs et négatifs doivent être réalisés en même temps et avec le même protocole que les échantillons du patient. Le contrôle de tissu positif doit comprendre la thyroïde et les cellules/structures doivent présenter des schémas de réaction tels que décrits pour ces tissus dans les « Caractéristiques de performance » pour tous les échantillons positifs. Le contrôle négatif recommandé est le FLEX Negative Control, Rabbit (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. IS600).

Interprétation de la coloration

Le schéma de coloration cellulaire est cytoplasmique. La coloration s'effectue au niveau de la lumière des follicules thyroïdiens et de la surface apicale des thyrocytes.

Caractéristiques de performance

Tissus sains : L'anticorps marque la Tg dans les follicules thyroïdiens et au niveau de la surface apicale des thyrocytes. La thyroglobuline est présente dans les cellules folliculaires thyroïdiennes et, dans une moindre mesure, dans le tissu interstitiel et le stroma thyroïdien en raison d'une fuite normale.

Tissus tumoraux : Dans les glandes hyperplasiques, la thyroglobuline a été détectée dans les follicules et les cellules glandulaires des follicules plus petits. Cet anticorps marque les carcinomes médullaires produisant plusieurs hormones, les carcinomes papillaires et folliculaires (5–7). La thyroglobuline a également été détectée dans les carcinomes folliculaires à cellules claires alors que d'autres néoplasmes à cellules claires n'ont pas été marqués (5, 8). Certains carcinomes anaplasiques à cellules fusiformes et carcinomes à cellules géantes sont également réactifs. Les sarcomes ou les carcinomes métastatiques sont négatifs (5).

DEUTSCH

Zweckbestimmung

Zur In-vitro-Diagnostik.

FLEX Polyclonal Rabbit Anti-Human Thyroglobulin, Ready-to-Use, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie in Verbindung mit Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräten bestimmt. Dieser Antikörper dient zur Identifikation von Thyroglobulin in Schilddrüsengewebe und ist ein nützliches Hilfsmittel zur Identifikation von gut differenzierten Schilddrüsenkarzinomen (1, 2). Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit ordnungsgemäßen Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten vorgenommen werden.

Zusammenfassung und Erklärung

Thyroglobulin (Tg) ist ein Glykoprotein mit einer prädominanten Form als Homodimer mit einem Molekulargewicht von 660 kDa. Tg, der Vorläufer von Schilddrüsenhormonen, wird von Thyrozyten synthetisiert und zur apikalen Oberfläche transportiert, wo es in das Lumen von Schilddrüsenfollikeln sezerniert und als Hauptkomponente von Kolloid gespeichert wird (> 95 %) Ein kleiner Tg-Anteil liegt in Form von Monomeren mit 330 kDA oder Tetrameren vor. Die Reduktion oder der Abbau von Tg-Molekülen mit 660 kDa oder 330 kDa kann zur Bildung kleinerer Polypeptide führen, von denen einige in Spurenmengen im Kolloid vorkommen. An der Schnittstelle zwischen Zelle und Kolloid ereignen sich post-transitionale Modifikationen von Tg, die durch eine Kopplung von Tyrosylresten mit Jodid charakterisiert sind, was die Bildung von Schilddrüsenhormonresten innerhalb des Tg-Moleküls zur Folge hat. Für die Hormonausschüttung ist in der Regel die Aufnahme von Tg vom Kolloid durch Thyrozyten und proteolytische Abspaltung am lysosomalen Pfad erforderlich.

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako oder den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzip, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlersuche und -behebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Gebrauchsfertiger polyklonaler Kaninchen-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0,015 mol/L NaN_3 enthält.

Immunogen

Aus menschlichen Schilddrüsen isoliertes menschliches Thyroglobulin.

Spezifität

Der Antikörper markiert menschliches Tg; Spuren von Verunreinigungen durch Antikörper wurden durch Festphasen-Absorption mit Humanplasmaproteinen entfernt.

Bei der gekreuzten Immunelektrophorese unter Verwendung von 12,5 µL konzentriertem Antikörper pro cm^2 Gelbereich tritt dann, wenn man den Antikörper mit menschlichem Schilddrüsenextrakt reagieren lässt, nur ein dem Tg entsprechendes Präzipitat auf. Mit 2 µL menschlichem Plasma tritt kein Präzipitat auf. Färbung: Coomassie Brilliant Blue.

In menschlichen Schilddrüsen-Zellkulturen markiert der Antikörper intrazelluläres Tg (4).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN_3), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Natriumazid kann auch in als ungefährlich eingestuften Konzentrationen mit Blei- und Kupferrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Metallazidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2–8 ℃ aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschch en aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer validiert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Vorbereitung der Probe und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Die Vorbehandlung durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) mit Dako PT Link (Code-Nr. PT100/PT101) ist erforderlich. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Optimale Ergebnisse können durch Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) erzielt werden.

Paraffineingebettete Schnitte: Die Vorbehandlung der formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitte mit dem 3-in-1-Probenvorbereitungsverfahren für Dako PT Link wird empfohlen. Vorbehandlung gemäß der Beschreibung in der Packungsbeilage für EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) durchführen. Hinweis: Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und mit permanentem Einbettmedium auf den Objektträger aufgebracht werden.

Entparaffinierte Schnitte: Eine Vorbehandlung der entparaffinierten, formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitte mit Dako PT Link nach demselben Verfahren, wie für die paraffineingebetteten Schnitte beschrieben, wird empfohlen. Die Objektträger nach dem Färben mit einem wässrigen oder permanenten Einbettmedium bedecken.

Die Gewebeschnitte dürfen während der Behandlung oder des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern wird die Verwendung von FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen.

Färbeverfahren und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Das empfohlene Visualisierungssystem ist EnVision™ FLEX, High pH (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8010). Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Software der Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräte mit den folgenden Protokollen vorprogrammiert:

Matrix-Protokoll: FLEXRTU2 (200 µL Abgabevolumen) oder FLEXRTU3 (300 µL Abgabevolumen)
Autoprogram: Thyrog (ohne Gegenfärbung) oder ThyrogH (mit Gegenfärbung)

Bei Färbedurchläufen mit höchstens 10 Objektträgern sollte der „Zusatz"-Schritt auf „Pufferspülgang" eingestellt werden. Für Färbedurchläufe mit mehr als 10 Objektträgern den „Zusatz"-Schritt auf „Keine" einstellen. Dieses gewährleistet vergleichbare Waschzeiten.

Alle Inkubationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden. Nähere Einzelheiten bitte dem Benutzerhandbuch für das jeweilige Gerät entnehmen. Wenn die Färbeprotokolle auf dem verwendeten Dako Autostainer-Gerät nicht verfügbar sind, bitte den Technischen Kundendienst von Dako verständigen.

Optimale Bedingungen können je nach Probe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Falls der beurteilende Pathologe eine andere Färbungsintensität wünscht, kann ein Anwendungsspezialist oder Kundendiensttechniker von Dako bei der Neuprogrammierung des Protokolls helfen. Die Leistung des angepassten Protokolls muss verifiziert werden, indem gewährleistet wird, dass das Färbemuster mit dem unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Färbemuster identisch ist.

Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision™ FLEX Hematoxylin (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8018) ausgeführt werden. Empfohlen wird ein nichtwässriges, permanentes Fixiermittel.

Positiv- und Negativkontrollen sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientenproben getestet werden. Das positive Kontrollgewebe sollte Schilddrüse enthalten und die Zellen/Strukturen müssen in allen positiven Proben die für dieses Gewebe unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene negative Kontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Rabbit (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. IS600).

Auswertung der Färbung

Die vom Antikörper markierten Zellen weisen eine auf das Lumen von Schilddrüsenfollikeln und die apikale Oberfläche von Thyrozyten beschränkte zytoplasmatische Färbung auf.

Leistungsmerkmale

Gesundes Gewebe: Der Antikörper markiert Tg in Schilddrüsenfollikeln und auf der apikalen Oberfläche von Thyrozyten. Thyroglobulin findet sich aufgrund normalen Auslaufens in den follikulären Zellen der Schilddrüse und, etwas weniger, in interstitiellem Gewebe und im Schilddrüsenstroma.

Pathologisches Gewebe: In hyperplastischen Drüsen wurde Thyroglobulin in Follikelzellen und den Glandularzellen kleinerer Follikel nachgewiesen. Dieser Antikörper färbt papilläre, follikuläre und mehrere Hormone produzierende medulläre Karzinome (5–7). Thyroglobulin wurde zudem in follikulären Klarzellkarzinomen nachgewiesen, während andere Klarzellneoplasmen nicht markiert wurden (5, 8). Einige anaplastische Spindel- und Riesenzellkarzinomzellen sind ebenfalls reaktiv. Sarkome oder metastatische Karzinome sind negativ (5).

References/ Références/ Literatur

1. Albores-Saavedra J, Nadji M, Civantos F, Morales AR. Thyroglobulin in carcinoma of the thyroid: An immunohistochemical study. Hum Pathol 1983;14:62-6.
2. Burt AD, Kerr DJ, Brown IL, Boyle P. Lymphoid and epithelial markers in small cell anaplastic thyroid tumors. J Clin Pathol 1985;38:893-6.
3. Marinò M, McLuskey RT. Role of thyroglobulin endocytic pathways in the control of thyroid hormone release. Am J Physiol Cell Physiol 2000;279:1295-1306.
4. Kayser L, Olsen BE, Høyer PE. Quantitative cytochemical demonstration of intracellular thyroglobulin in cultured human thyrocytes. Effects of fixatives, TSH and interleukin-1α. Histochem J 1991;23:235-40.
5. Albores-Saavedra J, et al. Thyroglobulin in carcinoma of the thyroid. An immunohistochemical study. Hum Pathol 1983; 14:62
6. LiVolsi V, et al. Anaplastic thyroid tumors. Amer J Clin Pathol 1987; 87:434
7. Holm R, et al. Medullary thyroid carcinoma with thyroglobulin immunoreactivity. A special entity? Lab Invest 1987; 57:258
8. Civantos F, et al. Clear cell variant of thyroid carcinoma. Amer J Surg Pathol 1984; 8:187

Explanation of symbols/ Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF — Catalogue number / Référence catalogue / Bestellnummer	2 °C 8 °C — Temperature limitation / Limites de température / Zulässiger Temperaturbereich	Use by / Utiliser avant / Verwendbar bis
IVD — In vitro diagnostic medical device / Dispositif médical de diagnostic in vitro / In-vitro-Diagnostikum	Σ — Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour <n> tests / Inhalt ausreichend für <n> Tests	Manufacturer / Fabricant / Hersteller
Consult instructions for use / Voir les instructions d'utilisation / Gebrauchsanweisung beachten	LOT — Batch code / Numéro de lot / Chargenbezeichnung	

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17